

ESTANDARIZACION DE LA FASE DE FERMENTACION “FASE I” EN LA OBTENCION DE UN LICOR DE MANDARINA UTILIZANDO LEVADURA “SACCHAROMYCES CEREVISIAE”

STANDARDIZATION OF THE FERMENTATION PHASE “PHASE 1” IN OBTAINING A LIQUOR MANDARIN USING YEAST “SACCHAROMYCES CEREVISIAE”



Quintana Fuentes Lucas Fernando¹, Gelvez Pinilla Margarita², Mendoza Ludy Janeth³

¹Universidad nacional Abierta y a Distancia-UNAD, Escuela de Ciencias Básicas Tecnología e Ingeniería

lucas.quintana@unad.edu.co

²Secretaria de salud de santander, Bucaramanga, Colombia,

margaretgelvez@gmail.com

³Universidad nacional Abierta y a Distancia-UNAD, Escuela de Ciencias Básicas Tecnología e Ingeniería,

ludy.mendoza@unad.edu.co

Recibido: 14 /07/2013 • Aprobado: 02/09/2013

RESUMEN

Se presenta el logro de la estandarización de una bebida alcohólica de mandarina en la FASE I, partiendo de la fruta cultivada en la vereda ILano de Palmas, del Municipio de Rionegro, Santander, como alternativa de aprovechamiento ,debido a que no toda es comercializada en forma directa por su tamaño o por maltrato. Se obtuvo un plan de calidad de producto y el licor de mandarina, determinándose los parámetros de control de las variables necesarias para desarrollo del proceso de producción y así obtener un producto estándar.

Palabras Clave: fermentación, licor, mandarina, levadura, vino.

ABSTRACT

We present the achievement of an alcoholic beverage with tangerine flavor in the phase one, starting of the fruit cultivated in the village llano de palmas in the municipality of Rionegro, Santander, how a alternative of use because the majority of the fruit is not marketed of a direct way for the size or the maltreat. We obtained a quality plan of the product and tangerine liqueur, determing the control parameters of the necessary variables for the development of the production process and obtain a standard product.

Key Words: fermentation liquor, mandarin, yeast, wine.



I. INTRODUCCION

Según Información del ICA de la Vereda de Llano de Palmas del municipio hay una gran producción de 9.675 toneladas en 500 productores en una sola cosecha de ésta el 10% de la producción no es comercializada (por el tamaño y el despitonado), la elaboración del vino de mandarina es una alternativa viable para el aprovechamiento de la fruta produciendo vinos de calidad, debido a sus agradables características sensoriales.

La estandarización de la bebida alcohólica a partir del jugo de mandarina y la obtención del vino de mandarina en FASE I de fermentación es vital para poder ofrecer esta alternativa de producción y con el establecimiento del plan de calidad se contribuye a fortalecer esta opción de aprovechamiento controlando el proceso de fabricación.

Las Normas Técnicas Colombianas NTC 1330, NTC 708 , NTC 223 donde describe las prácticas permitidas en la elaboración de vinos de frutas, la Norma Técnica Colombiana NTC 4976 de Buenas Prácticas de Manufactura en la Industria de Bebidas alcohólicas y el Decreto 3192 de 1.983, nos permitieron la estandarización del vino de mandarina mediante el diseño plan de calidad de producto herramienta que nos garantiza el aseguramiento de la calidad del producto, soportados en la normatividad vigente, las variables a controlar , los puntos críticos de control en el proceso y especificando claramente los análisis propuestos.

II. MARCO TEÓRICO

A. Mandarina china o común (*Citrus deliciosa*)

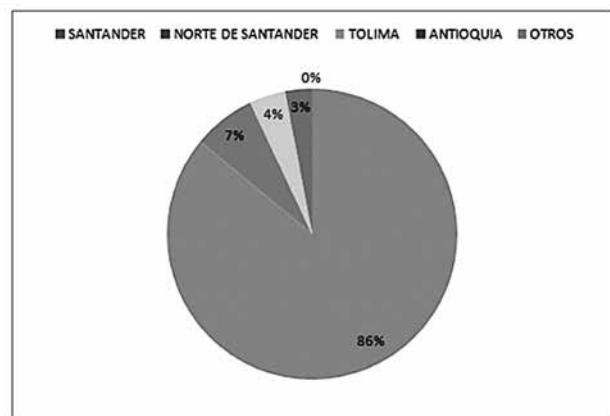
En el mundo la mayoría de las especies cítricas tienen su origen en las regiones tropicales y subtropicales de Asia y el Archipiélago de Malayo. En la taxonomía la familia Rutaceae se compone de unos 150 géneros y 900 especies, principalmente arbustos y árboles, distribuidas en regiones tropicales, templadas y particularmente abundantes en Sudamérica y Australia.

La Mandarina China o Común proviene de árboles de gran vigor, producción y calidad de fruto. generalmente se propagan por semilla , se adapta entre 800 y 2000 msnm, en el Occidente de Colombia se siembran otras variedades como ICA bolo y el ICA anaimé, en Santander predomina esta variedad [1]

El crecimiento vegetativo se detiene con temperaturas menores de 12.5oC y se incrementa progresivamente hasta 30oC temperatura óptima esta entre 22oC a 27oC, las temperaturas elevadas en condiciones de baja humedad y viento, afectan drásticamente la floración y el cuajado de los frutos.

La mandarina se cultiva en una amplia variedad de suelos, que van desde texturas arcillosas a arenosas también en suelos con pH ácidos o con tendencias a la alcalinidad, el rango óptimo de pH es de 5 a 6 con valores mas bajos se presentan problemas en el desarrollo de la planta por deficiencias de calcio y Magnesio y con valores de pH superiores a 6 se presentan problemas de fijación con el hierro y el Zinc.

La producción en Colombia de cítricos es de vital importancia y dentro de ellos esta la mandarina, Santander es el cuarto departamento en producción de cítricos y es el mayor productor de mandarina en Colombia [2].



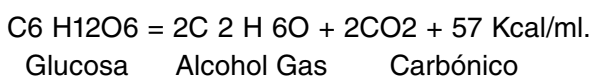
Fuente: la cadena de cítricos en Colombia.

Fig. 1 Distribución regional de producción de mandarina

B. Fermentación alcohólica

La transformación del mosto en vino es un proceso complejo, En el pasado antes de los descubrimientos de Pasteur se interpretaba la fermentación como un proceso de descomposición espontánea del mosto, Pasteur demostró que la fermentación se produce por medio de levaduras cuando estas viven sin aire y transforman la glucosa del azúcar del mosto en alcohol y gas Carbónico fundamentalmente [3].

La reacción simplificada es:



Además de alcohol y gas carbónico se obtienen un gran número de sustancias, ácidos, alcoholes, aldehídos etc. [3].

La fermentación es anaerobia y el funcionamiento de las levaduras es limitado a un pH de 3.5 a 5.5. La fermentación alcohólica se realiza gracias a las levaduras que son hongos ascomycetos unicelulares de un tamaño aproximado de 2-6 micras y se encuentran en estado natural en la capa superficial del suelo de los viñedos [4].

Existen gran cantidad de número de especies de levaduras que se diferencian por su aspecto, sus propiedades sus modos de reproducción y la forma en que se transforman el azúcar.

Las levaduras del vino pertenecen a una docena de géneros cada uno dividido en especies, al encontrarse en un medio nutritivo favorable se reproducen (por gemación y por formación de esporas) multiplicándose de forma considerable y favoreciendo así su actuación, en pocos minutos y en forma incesante duplican su número, si se encuentran en ese medio nutritivo favorable de forma que su multiplicación es explosiva

El proceso de fermentación es exotérmico y las levaduras tienen un rango de funcionamiento de temperatura óptimo, se debe entender además que las levaduras son seres mesófilos.

Si se expone cualquier levadura a una temperatura cercana o superior a 55°C por un tiempo de 5 minutos se produce su muerte. La mayoría cumple su función a 30°C, por ello la fermentación alcohólica termina cuando prácticamente todo el azúcar ha sido transformado en alcohol, queda siempre una pequeña parte aun por transformar llamado azúcar residual medido y valorado.

La vigilancia de la fermentación es imprescindible y se reduce al control de dos parámetros: °Brix (concentración de azúcar en el jugo) y la temperatura. El control de los °Brix se realiza por medio de un refractómetro, este equipo permite determinar la cantidad de azúcar que queda en el mosto en cada momento y así mismo da una idea como marcha la fermentación y a que velocidad se va transformando el azúcar. La duración de la fermentación y del encubado varía según el tipo de vino que se quiera obtener y de la velocidad de la reacción fermentaria. Esta duración influye de manera decisiva en el cuerpo. Astringencia, evolución y longevidad del vino.

El vino se realiza en dos fases, en la FASE I, que comprende desde el inicio de la fermentación hasta llegar a tener la transformación del azúcar en alcohol y lograr el máximo de eficiencia en la FASE II se llevan a cabo las etapas de clarificación, embotellado, almacenamiento y añejamiento. Pero hay ocasiones en la clarificación y filtrado, se mezclan vinos de distintas variedades para obtener diferentes colores, aromas y sabores., en la FASE II se lleva a cabo el envejecimiento propiamente dicho en donde el vino alcanza su desarrollo y calidad óptima [5].

III. MARCO LEGAL

Para llevar a cabo la estandarización del vino de mandarina tenemos las condiciones de proceso referenciadas en la normatividad contenida en el Decreto 3192 de 1.983, [6] y las Normas Técnicas Colombianas 4976, 708, 223 y 173 en ellas se establece que el vino de frutas se debe elaborar en condiciones sanitarias apropiadas a partir de

mostos constituidos por los jugos de frutas sanas y limpias, se permite la adición de agua a aquellos mostos que así lo requieran, siempre que dicha adición se haga antes de la fermentación.

El sabor, olor y color finales dependen tanto de la variedad de fruta como el proceso de fermentación y añejamiento, debe tener las características sensoriales de un vino sano, sin sabores ni olores extraños a la naturaleza propia del vino en cuestión. Se permite la adición de alcohol etílico neutro o extra neutro después de la fermentación, salvo en aquellos casos especificados en la Norma Técnica Colombiana particular

de cada producto. No se permite la adición de aromas artificiales, ésteres y/o esencias que no procedan de la fruta empelada en la elaboración del vino. Los vinos de frutas deben resistir, sin alterarse, una incubación durante 48 h en estufa a una temperatura de 37°C.

IV. REQUISITOS ESPECÍFICOS

Los vinos de frutas en Colombia deberán cumplir con los requisitos específicos establecidos en el Decreto 3192 de 1.983 y la Norma Técnica Colombiana 708 [6], [7].

TABLA I
REQUISITOS ESPECÍFICOS NTC 708.

REQUISITOS	VALOR MINIMO	VALOR MAXIMO
Contenido del alcohol en grados alcoholímetros a 20°C	6	-
Acidez total expresada como ácido tartárico en g/dm ³ (libre de SO ₂ , CO ₂ y ácido sorbico.)	3.5	10
Acidez volátil expresada como ácido acético e g/dm ³ (libre de SO ₂ , CO ₂ y ácido sorbico.)	-	1.2
Metanol en mg/dm ³ de alcohol anhidro	-	1000
Azúcares totales previa inversión expresados como glucosa, en g/dm ³		
- Seco	0	15
- Semiseco	15.1	50
- Dulce	50.1	-
Extracto seco reducido en g/dm ³	10.0	-
Sulfatos expresados como sulfato de sodio en g/dm ³	-	2.0
Cloruros expresados como sulfato de sodio en g/dm ³	-	1.0
Anhídrido sulfuroso total en mg/dm ³	-	350
Acido sorbico o sus sales de sodio o potasio expresado en mg/dm ³ expresado como ácido sorbico		150
Hierro expresado como Fe en mg/dm ³		8.0
Cobre expresado como Cu en mg/dm ³		1.0
pH	2.8	4.0
Colorantes artificiales	NEGATIVO	

En la Norma Técnica Colombiana NTC 223 [8], se establecen las prácticas permitidas en la elaboración de los vinos y vinos de frutas.

De esta Norma se consideran prácticas comunes en la fabricación de vinos las siguientes:

- La mezcla de vinos entre si,
- La pasteurización, el enfriamiento, la filtración con ayudas filtrantes químicamente inertes, el trasiego, el tratamiento con aire o anhídrido carbónico, la centrifugación y otros métodos físicos usuales.
- La clarificación

Mostos de frutas naturales producidas en el país cuya concentración en azúcares fermentables no será, en ningún caso, inferior a 105 gr/dm³ expresados como azúcares reductores totales. Se aceptan en un momento dado y de acuerdo al cumplimiento de ciertas condiciones las correcciones vinos pobres en alcohol, los vinos o mostos con escasa acidez fija, los vinos o mostos con excesiva acidez fija, los vinos pálidos, los vinos oscuros, los vinos que presenten sabores u olores extraños, de acuerdo a la NTC 4976 (Buenas Prácticas de Manufactura en la Industria de Bebidas Alcohólicas) [9], en Colombia las bebidas alcohólicas deben ser producidas y comercializadas solamente por empresas legalmente establecidas, cuyas actividades sean inspeccionadas regularmente por autoridades nacionales.

Un plan de calidad de producto es la forma como se garantiza tener como resultado el mismo producto dentro de especificación, este plan se convierte en la carta de navegación para garantizar un producto estándar, en este caso el vino de mandarina. Para lograrlo se deben establecer: las etapas del proceso, área responsable de cada etapa, las especificaciones, normatividad que regula las especificaciones, equipos de control, tipo de control, frecuencia de control,

responsable del control registro de las mediciones obtenidas y en caso necesario establecer si es un punto de control o punto crítico de control [1].

V. METODOLOGIA

A. *Materia prima*

Se selecciona de la materia prima de acuerdo a lo contemplado en la NTC 1330 [10], considerando la variedad de mandarina (citrus deliciosa). de acuerdo al color y tamaño, luego se hace el lavado y desinfección respectivo.

B. *Extracción del jugo de mandarina*

Se procede a la extracción del jugo por exprimido, procediendo a realizar un filtrado para separar semillas y fragmentos gruesos [11].

C. *Corrección del azúcar*

Se debe verificar el Brix del jugo y se calcula la cantidad de azúcar necesario para llevarlo a 20° Brix + 2 . [12], [13].

D. *Corrección de la acidez*

Se toma el pH del jugo obtenido y se ajusta con ácido cítrico a un valor de pH de 3.6 a 3.8

E. *Preparación de las levaduras*

Las levaduras utilizadas para la fermentación son cepas comerciales liofilizadas de *Saccharomyces Cerevisiae* marca "levapan" los recipientes utilizados para la activación deben estar completamente limpios y desinfectados, de igual manera toda la zona de la preparación, utilizando guantes, mechero encendido gorro, tapabocas, guantes delantal, para evitar contaminación, siendo hidratada la levadura con 50 ml de agua estéril, la temperatura del agua debe ser de 35 oC, se mantiene esta solución por 20 minutos, una vez terminado el tiempo tenemos la mezcla de levadura activada lista.

F. *Fermentación*

Ajustado el jugo con el azúcar necesario se procede a pasteurizar a 60 – 61 oC por 5 minutos,

se enfría a la temperatura de inoculación, se adiciona la levadura activada y 1gr de ácido ascórbico por cada 1000gr se coloca en cuarto oscuro a una temperatura de 25 oC durante 20 días. Se elaboraron 5 lotes o baches en fechas diferentes como se relaciona en la tabla 2.

Se efectuaron análisis cada 8 días, se determinaron los sólidos insolubles con una centrifuga de marca Hettich EBA 20, grados Brix con refractómetro de mano con escala de 0 a 90, modelo BRIXCO ref 3090, el pH con un pHmetro marca Minipa NPH 1000, la Densidad con picnómetro, la turbiedad y el color en una Espectrofotómetro marca - HIMADZU UV, VIS, UV mini 1240 y los grados de Alcohol en un alcoholímetro según Lussac Cartier. Una vez terminado el periodo de fermentación se realizó el trasiego a otro recipiente separando del vino la levadura y se deja a una Temperatura de 25 oC por 30 días.

G. Clarificación

Terminada la FASE I de fermentación y trasgado el vino, se deja en reposo a temperatura de 25 oC por 30 días. Este proceso quedaría para la culminación en la FASE II.

H. Embotellado y almacenamiento

El envasado se debe realizar en botellas para vino de color ámbar, con un espacio de cabeza adecuado, garantizando un tapado

adecuado, las botellas lavadas y desinfectadas previamente, almacenando a temperatura de 10 oC con el fin de favorecer el desarrollo de la FASE II.

I. Programa de preparación de lotes de vino de mandarina

Se programó la fabricación de 5 baches de vino cumpliendo las directrices del plan de calidad de producto diseñado, se determinó un momento inicial y a partir de este punto se fijó una frecuencia de 8 días para la ejecución de análisis de seguimiento de las variables a controlar.

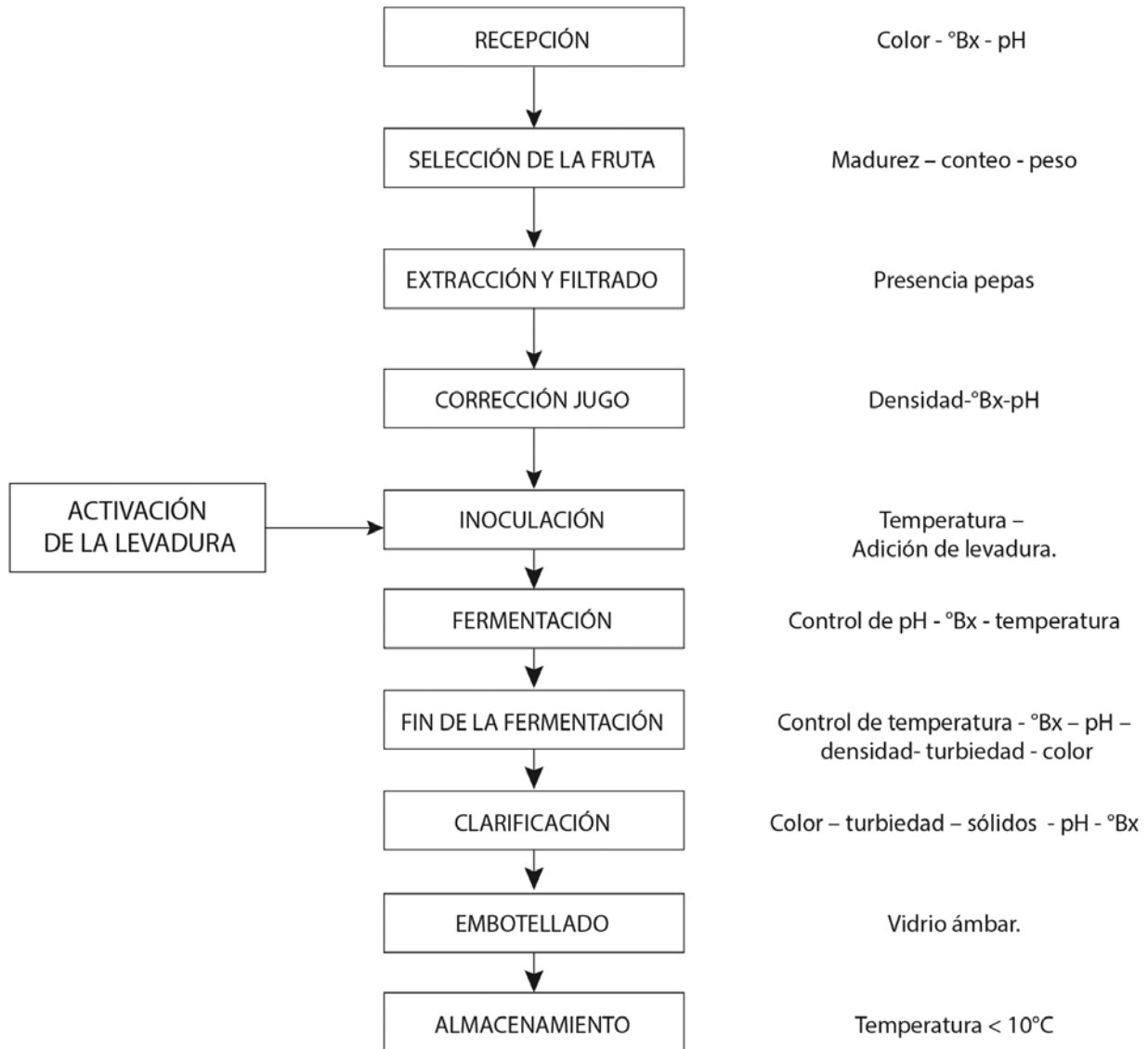
Los datos obtenidos en primera instancia se analizaron de manera gráfica, posteriormente se estableció si no hay diferencia significativa entre los baches aplicando un ANOVA en una sola vía, verificando la confiabilidad con un 95% y un 99%. [14].

Se establecieron las variables principales, se verificó el índice de correlación entre ellas y su importancia en el proceso.

VI. ANALISIS DE RESULTADOS

A. flujograma de proceso.

En el diagrama 1 se presentan las etapas establecidas para la elaboración del vino de mandarina y los controles a realizar en cada una de ellas para dar cumplimiento al plan de calidad establecido.



Fuente: los autores

Fig. 1 Proceso de elaboración del vino de mandarina

B. Plan de calidad de producto

Una vez revisadas las etapas del proceso y los requisitos establecidos en la normatividad legal y

las normas técnicas colombianas se elaborò el siguiente plan de calidad de producto que permitiò la ejecución del proceso en forma controlada [15], [16],

TABLA II
PLAN DE CALIDAD PARA PRODUCCIÓN DE VINO
DE MANDARINA FASE II

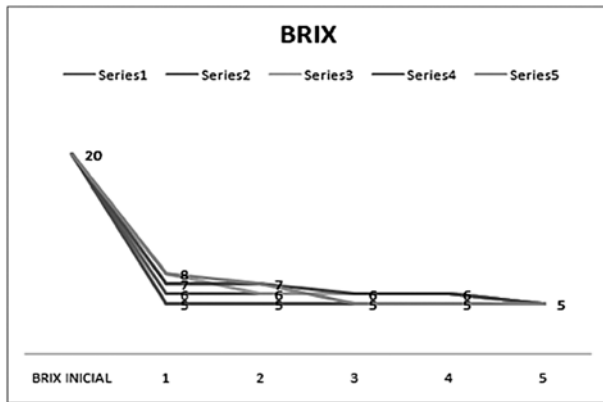
ETAPAS	Control de Calidad	Producción	Parámetros	Especificación	Norma	Responsable
Selección de la fruta		x	Color madurez	5-6 10	NTC 1330	Aux Calidad
Extracción del jugo y filtrado		x	Brix pH Temperatura	9 ± 2 3.4 25± 2°C	NTC 708 NTC 223	Aux Producción
Corrección del jugo		x	Brix pH	20 ± 2 3-4	Decreto 3192 NTC 708	Aux Producción
Inoculación		x	Brix pH Temperatura Levadura	20 ± 2 3-4 25± 2°C Activada	NTC 173 NTC 708	Aux produccion
Acondicionamiento del cultivo		x	Brix pH Temperatura Levadura	20± 2 3.4 25±2°C 35°C	Norma Interna.	Aux Produccion
Fermentación		x	Brix pH Densidad %sol-insolubl Color Turbiedad	20± 2 3.4 1.0 1.-1.5 420 nm 620 nm	NTC 4976 NTC 708	Aux Produccion
Fin de la fermentación	x	x			Decreto 3192 NTC 708	Aux de Produccion
Clarificación		Fase II		Fase II		Fase II
Embotellado		Fase II		Fase II		Fase II

Fuente los Autores

C. Análisis variables de control de proceso

1) Grados brix. El brix juega un papel importante en el proceso de fermentación pues nos permite medir la evolución de la misma en forma directa y detectar en que momento se termina el proceso de transformación de azúcar en alcohol. El gráfico 1 nos muestra el comportamiento en los 5 baches preparados.

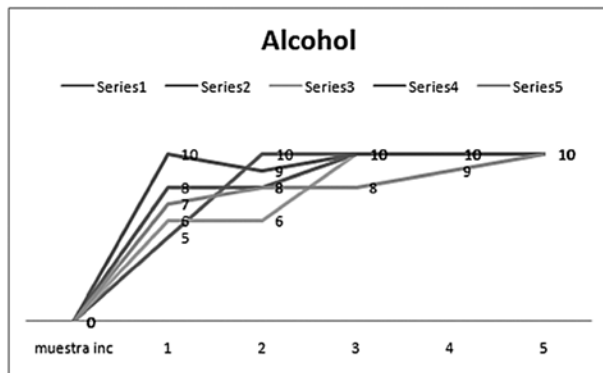
En la figura 2, observamos la consistencia en el brix de inicio correspondiente a 20 y el comportamiento inicial a los 8 días con una disminución entre los 12 y 15 brix, a lo largo de los 4 muestreos posteriores se observa una consistencia en el brix final y demostrándose que al 5 muestreo se ha finalizado la FASE I.



Fuente: los autores

Fig. 1 Resultados Brix por bache.

2) Grados alcohólicos. Al igual que los grados brix el contenido de alcohol se genera de manera progresiva⁹ y consistente en forma inversamente proporcional con el contenido de azúcar en los 5 baches elaborados y durante el tiempo de muestreo, observando adicionalmente un concentración constante después del 4 muestreo indicándonos que la FASE I a finalizado.

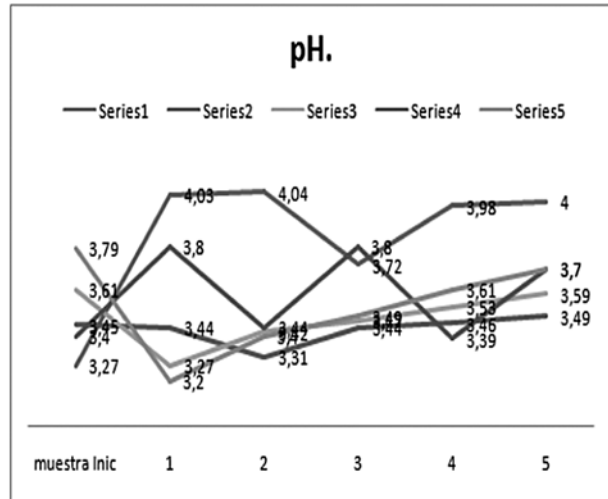


Fuente: los autores

Fig. 2 Resultados del Alcohol de todas las muestras.

3) Análisis de turbiedad. En la evolución de turbiedad se observó datos no muy significativos desde el inicio del proceso llegando a concluir que este parámetro de control no es muy importante en la elaboración del vino de mandarina. De acuerdo a los resultados obtenidos este parametro sera clave una vez se proceda a la FASE II del proceso de producción del vino.

4) Análisis de PH. El pH nos indica el grado de acidez en forma indirecta y nos indica si hay alguna variación por efecto del proceso de fermentación.



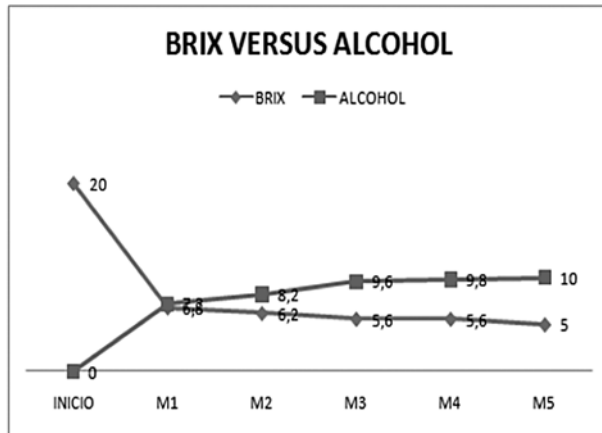
Fuente: los autores

Fig. 3 Resultados de pH de todas las muestras.

Los resultados de pH durante el proceso son variables. Se observa un rango de variación entre 3,2 a 4,0.

Aunque el pH no es tan significativo como el Brix y la concentración de alcohol si es una variable que nos permitira monitorear posibles cambios por contaminaciones externas o fermentaciones indeseables.

Las dos variables de gran importancia en el proceso de elaboración del vino son los Grados Alcohólicos y los Grados Brix , estos se mantuvieron proporcionales, concluyendo que el Brix es un indicador directo de la degradación del azúcar en alcohol. Al comparar en la gráfica 4 los promedios de los 5 baches observamos que los resultados son consistentes y se puede afirmar que hay una garantía en la aplicación del plan de calidad para la producción garantizando la calidad homogénea del producto. Se evidencia que son inversos pues nos da un coeficiente de correlación negativo con un valor de -0,98.



Fuente: los autores

Fig. 4 Brix Vs Alcohol.

5) Análisis de varianza. Adicionalmente para confirmar el análisis gráfico establecido aplicamos en análisis de varianza para confirmar que no hay diferencias entre los diferentes baches y que el proceso da garantía, a A continuación tenemos el análisis de varianza para grados alcohólicos.

TABLA III
ANÁLISIS DE VARIANZA PARA GRADOS ALCOHÓLICOS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	9,840	4	2,460	,654	,631
Intra-grupos	75,200	20	3,760		
Total	85,040	24			

Al consultar en la tabla de F respectiva tenemos que el F crítica para:

Alfa: 0,01 es de 2,87

Alfa: 0,05 es de 4,43

Teniendo en cuenta que la aceptación de la hipótesis nula de que no hay diferencias Teniendo entre las medias se basa en el criterio de: $F_{calculada} < F$ de la tabla.

De acuerdo a este análisis encontramos que la F calculada es menor que la F crítica por lo que se acepta la hipótesis nula de que no hay diferencia entre los diferentes baches, así

podemos verificar que la estandarización es adecuada con un grado de confiabilidad del 99%.

A continuación tenemos el análisis de varianza para °Brix.

TABLA IV
ANÁLISIS DE VARIANZA PARA °BRIX

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	4,960	4	1,240	1,512	,237
Intra-grupos	16,400	20	,820		
Total	21,360	24			

De acuerdo a este análisis para las filas que viene siendo los baches encontramos que la F calculada es menor que la F crítica por lo que se acepta la hipótesis nula de que no hay diferencia entre los diferentes baches, así podemos verificar que la estandarización es adecuada con un grado de confiabilidad del 99%.

Al consultar en la tabla de F respectiva tenemos que el F crítica para:

Alfa: 0,01 es de 2,87

Alfa: 0,05 es de 4,43

Teniendo en cuenta que la aceptación de la hipótesis nula de que no hay diferencias entre las medias se basa en el criterio de: $F_{calculada} < F$ de la tabla.

VI. CONCLUSIONES

Las variables mas importantes en la producción del vino son el alcohol , el Brix y la temperatura a la cual se lleva a cabo el proceso, en nuestro caso se garantizo una temperatura controlada lo que nos permitio establecer de acuerdo al seguimiento que el la concentración de alcohol y el brix son indicadores de la evolución adecuada del proceso, también determinamos que estas son inversamente proporcionales y que al medirlas y compararlas son un indicador del buen desarrollo del proceso.

En el proceso de la Estandarización de la bebida alcohólica a partir del jugo de mandarina nos permite garantizar que el ajuste inicial en varias variables de la fermentación, es importante para llegar a obtener un vino de óptima calidad .

El plan de calidad como guía en la producción establecelos controles para la verificación de las variables desde el inicio de la fermentación hasta la terminación y tomar correctivos si fueren necesarios en la FASE I, de esa manera se garantiza uniformidad en el producto para proseguir con la FASE II y obtener excelente producto.

La estandarización puede traer beneficios para los agricultores de la región y el aprovechamiento de otros tipos de frutas tropicales, mejorando la participación del campo en la actividad comercial, brindando alternativas de diversificación en la búsqueda de mejores productos para el consumo humano y a la vez minimizar las pérdidas económicas por el inadecuado manejo pos cosecha de frutas.

REFERENCIAS

- [1] ICA. (2005). Revista Agrícola Cultivo de Mandarina Santander.
- [2] Espinal, C. (2005). LA CADENA DE CÍTRICOS EN COLOMBIA. Consultado en Febrero 20, 2012 en http://www.corpoica.org.co/sitioweb/Archivos/Foros/caracterizacion_citricos1.pdf.
- [3] Ferreyra, M. (2006). ESTUDIO DEL PROCESO BIOTECNOLÓGICO PARA LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA ALCOHOLICA A PARTIR DE JUGO DE NARANJAS (Tesis de Doctorado, UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA).
- [4] Carpenter, Philip (1980). Microbiología.. México D.F.: Interamericana.
- [5] Carretero, F. (2011). Procesos de fabricación de bebidas alcohólicas. Consultado en Febrero 20, 2012 en http://upcommons.upc.edu/pfc/bits-tream/2099.1/4867/4/03_Memoria.pdf.
- [6] MINISTERIO DE SALUD. (1983). DECRETO 3192 DE 1983. Bogotá D.C. República de Colombia.
- [7] ICONTEC (2000). NTC 708. BEBIDAS ALCOHOLICAS. VINOS DE FRUTAS. Bogotá D.C.: ICONTEC.
- [8] ICONTEC (2004). NTC 223. BEBIDAS ALCOHOLICAS. VINOS. PRACTICAS PERMITIDAS EN LA ELABORACION.. Bogotá D.C.: ICONTEC.
- [9] ICONTEC (2001). NTC 4976. BUENAS PRACTICAS DE MANUFACTURA EN LA INDUSTRIA DE BEBIDAS ALCOHOLICAS.. Bogotá D.C.: ICONTEC.
- [10] ICONTEC (1997). NTC 1330. FRUTAS Y HORTALIZAS FRESCAS. MANDARINA. Bogotá D.C.: ICONTEC.
- [11] DESROSIER, N. (1974). Conservacion de Alimentos. MEXICO D.F.: C.E.C.S.A.
- [12] LEES, R. (1980). ANALISIS DE LOS ALIMENTOS. METODOS ANALITICOS Y DE CONTROL DE CALIDAD. ZARAGOZA: ACRIBIA.
- [13] FISHER, H. (1980). ANALISIS MODERNO DE LOS ALIMENTOS. ZARAGOZA: ACRIBIA.
- [14] Hernández, R, Fernández, C y Baptista, P (2006). METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN. México D.F.: McGraw Hill.
- [15] Carrizosa, Francisco (2004). ISO 9000 Y LA PLANIFICACION DE LA CALIDAD. Bogotá D.C.: ICONTEC.
- [16] ICONTEC. (2005). *Sistema de gestión de inocuidad de los alimentos*. Bogota D.C.: ICONTEC.

